19日本国特許庁(JP)

① 特許出願公開

⑫公 開特許公報(A) 平2-1535

®Int. Cl. 5

識別記号

庁内整理番号

⑩公開 平成2年(1990)1月5日

G 01 N 27/327

7363-2G 7363-2G

G 01 N 27/30 3 5 3 3 3 6

27/46 審査請求 未請求 請求項の数 4

(全21頁)

😡発明の名称

水溶液中の酵素脱水素可能な化学的種の測定のためのセンサー

②特 顧 昭63-251736

②出 願 昭63(1988)10月5日

優先権主張

図1987年10月 5 日図米国(US) 104862

@発 明 者 カーター・アンダーソ アメリカ合衆国ミネソタ州55417ブルツクリンパーク・シ

ツクステイセブンスウェイ 6057

デビツド・シー・ソジ 個発 明 者

アメリカ合衆国ミネソタ州55408ミネアポリス・アービン

グアベニユーサウス 2654

勿出 顔 アーデン・メデイカ

アメリカ合衆国ミネソタ州55113ローズビル・ロングレイ

クロード 2675

ル・システムズ・イン コーポレーテツド

四代 理 人 弁理士 小田島 平吉

最終頁に続く

明戲肉

1、発明の名称

水溶液中の酵素脱水素可能な化学的種の 測定のためのセンサー

2、特許額次の蘇州

1、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極か らなり、脱木素に対して陰受性の選択した化学的 種のレベルをその溶液中においてそのためのデヒ ドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア顔定的 に、検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用 するための1回使用の感知装置において、煎品値 極の1つは、メチレンブルー、NAD+、パーフ ルオロスルホン酸ポリマーおよび崩記選択した化 学的種の脱水楽のための酵素がらなる虹点物で コーティングされていることを特徴とする前記感 知装置.

2、脱水溝に対して感受性の選択した化学的種 ·の濃度を、水溶性中において、そのためのデヒド ロゲナーゼ酵楽の存在下に決定する方法であっ て、電極上のコーティングの外表面を崩記溶液で

ぬらし、前配溶液を前配コーティングを通過させ て前記電框と接触させ、そして前記電框と他の電 極との間の電流を生成させ、その後、頂部電流の アンペアを測定することからなり、前記コーティ ングはメチレンブルー、NAD+、 パーフルオロ スルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種 の脱水楽のための酢楽からなることを特徴とする 前記方法。

3、NAD・、パーフルオロスルホン酸ポリ マー、メチレンブルーおよびデヒドロゲナーゼ酸 素からなることを特徴とする遺植コーティング組 成物。

4. NAD+、パーフルオロスルホン酸ポリマ ー、ポリビニルビロリドン、硬化したポリ酢酸ビ ニルラテックスおよびデヒドロゲナーゼ酢楽から なるコーティングをその上に有する遊電性本体が ちなることを特徴とする感知装置のための電話。

3. 発明の詳細な説明

木苑明は、医学的装置に関する。とくに、木苑 明は、水溶液、とくに体液、例えば、全血液、血

環および尿の中の前導脱水素可能を物質、例えば、グルコースのレベルを、アンペア的に、測定するために使用する、臨床化学的分析装置に関する。

思者の血液または他の体液中のある種の化学的 物質および/または生物学的物質のレベルを指症 に、信気性をもって、かつ迅速な質視を得ること が、現代の診断医学において、要求されている。

放も普通の決定の1つは、血液または尿中のグルコースの決定であり、そして、便宜上、以後の 逆則はグルコースのレベルの決定に集中される。

一回使用の必知数数を利用するこのような分析のために有用なシステムは、1987年3月31日付けの米国特許的4.554,127号(リチャード W.ベイカーおよびロウジャー L.フンク)(その開示を引用によってここに加える)に記載されている。

未国特許第4,854,127号の装置において、体液、例えば、血液または尿の試料を多宝の 受力の1つの窓に入れ、一方目扱り定め何の液体 を受容の他の窓に入れる。次いで、センサーの電 掘へ、まず、目盛り定め前の液体を放れさせ、次 いで試験な料を放れさせる。 放体とセンサー電板 との周次の接触は電旋を発生させ、この電流を測 定しかつ関係づけて、試験後体中の特定の物質の 濃度に関する所望の情報を得る。次いで、キャリ ヤー(carrior)を廃棄する。

米国特許第4、854、127号のシステムにおけるセンサー電極の各々は、ポリマーおよび電気的活性機を含むコーティングを有するものとして開示されており、ここでポリマーはセンサーの活性区域にわたって度をつくり、そしてシステムの専党性表面に近くに電気的活性機を固定化する機能を有する。

また、溶液中のそのレベルを測定すべきある物質、例えば、グルコースは、適当なデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に脱水楽に対して感受性であること、およびこのような脱水素は電子を遊離し、これによって測定可能な電波を発生することは知られている。ほとんどの場合において、脱水素は

直接電流に変換されないが、むしろ、コファクター、例えば、NADH (NAD+の最元された形態~ニコチンアミドアデニンジヌクレイド)、おうなび仲介物質を含む反応の機構による。このいてものなかののでは、では、120 Gortの動きでは、Chemical de Coenzymas)」、J. Chem. Soc. Faraday Trans. I. 明 は Coenzymas)」、J. Chem. 1986、82、1245-1258(そのトンステンでは Modified の Trans. I. 明 な引用によってここに加える)。ロ・ゴルトは、Coenzymasからにおける反応機構は、次によって変わされる:

SHERT (MADH) (Mox) H+ 20- 12 M

ここでSH。 およびSは、その額度を決定すべき 複の、それぞれ、水楽化および脱水楽された形態 を表わし、そしてMoxおよびMredは、それ ぞれ、仲介物質の酸化されたおよび蓄元された形態を汲わす。

グルコースのレベルの世気化学的検出のための 最も普強のアッセイの系は、グルコースオキシダ ーゼの存在下に分子状態等によりグルコースを競 化して、グルコール酸および過酸化水素を生成す ることを含む。 電気化学的検出は、酸素の消耗 に、あるいは過酸化物の発生に関係づけることが できる。

いずれの場合においても、この機構の主要な欠点は酸深の利用可能性における制限である。この 制度は、試験旋体において直面することが期待される環境の所望の直盤の範囲のために、選切な酸 実の供給を保証するために、予盟希求を必要とする。さらに、全血液の測定は、ヘモグロビンの酸 素級衝化力のために、特確に測定することが非常 に汎嫌である。

あるいは、先行技術は、化学反応において酸素 の代わりに仲介物質を使用し、これはセンサー電 板上の設またはコーティング中に挿入されて、干 論者訳の必要性を様敗した。ペンゾキノンを仲介 物質として選択する場合、グルコースとペンゾキ ノンとのグルコースオキシダーゼの存在下の反応 はグルコール億およびハイドロキノンを生成する。

この別法は、所望の(および測定する)反応が グルコースと分子状態楽との前述の反応と競争す るという欠点を有する。こうして、異なる酸素濃 度をもつ試料は、同一のグルコース濃度において 異なる培養の応答を生成することがある。この助 害は全血液の測定において最も顕著である。

本発明の1つの而によれば、キャリヤーおよび 少なくとも2つの世様からなり、脱水素に対して 感受性の選択した化学的種のレベルをその溶液中 においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在 下に、アンペア測定的に、検出できる臨床化学的 分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知 装置において、前記電極の1つは、メチレンブル ー、NAD+、パーフルオロスルホン機ポリマー および前記選択した化学的種の脱水素のための解

を、例えば、アンペアに翻訳するために必要な成分のすべては、グルコース含量の期待する直線の 範囲のために適切な供給で、コーティング中に配合される。こうして、鉄料の予備希釈は不必要で ある。

さらに、酸素は測定において含まれず、そして 酸素の濃度はそれに影響を及ぼさない。

コーティング中のメチレンブルーの存在は、低い印加電圧における検出および測定を可能とし、 こうしてより高い電位において酸化に感受性であ りうる種からの妨害を排除する。

本発明のコーティングされた遺標は、急速に応答し、2分以下の結構な翻定を可能とする。

及後に、膜の組成物は水溶液中に可溶性でなく、そして信気性ある副定の実施を可能とするために十分に及い期間の間その一体性を保持する。 アニオン性パーフルオロスルホン醋ポリマーはカチオン性パチレンブルーを膜に結合すると何じられる。

木苑明の感知電極は測定アノードであり、好ま

案からなる加減物でコーティングされていること を特徴とする前記過知整数が提供される。

本発明の他のの面によれば、脱木素に対して感受性の選択した化学的種の環度を、木溶性中において、そのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在がに決定する方法であって、電極上のコーティングを通過させて前記電極と接触させ、その外表面を検索をは、をは、その後、前記電波のアンペアを測定することである。 ボーフルオロスルホン酸ポリマーおいが高温度にした化学的者の脱水素のための酵素からなることを特徴とする前記方法が根供される。

好ましくは、コーティング組成物は、また、水 溶性樹脂のポリマー、例えば、ポリピニルピロリ ドン(PVP)および水性エマルジョン接着剤、 例えば、ポリ酢酸ピニルラテックス接着剤を結晶 する。

本苑明のシステムにおいて、グルコース合量

しくは単一のカソードおよび地面に電子を伝達する並列の2つの別々のアノードの1つである。 値 方のアノードは、「バックグラウンドアノード」と呼び、カソードおよび地面に関して一定の電圧を維持する。こうして、この分野において知られているように、試験溶液に暴遽されることによって起こる測定アノードにおける状態およびその上の電子の発生の変化は、アノードおよびカソードの間に印加する電圧に無視できる影響のみを有する。

測定アノードおよびバックグラウンドアノードの円者は、好ましくはグラファイトから作る。 ガソードは、好ましくは、銀から作り、そして塩化銀のコーティングを有する。 放送のコーティング 紅成物でコーティングされるのは測定電極のみである。

パーフルオロスルホン酸ポリマーが唯一の樹脂 成分であるコーティング組成物において、コー ティングは目盛り定め剤(calibrant) の液体および試験液体のそれを通過する急速な料 送のためには密でありすぎる。こうして、このような組成物はより違い試験において使用することができるが、急速な読みを提供することを理図するシステムにおいては好ましくない。

コーティング組成物が、また、水溶性樹脂のポリマーを含む肝ましい実施透線において、コーティング組成物は目盛り定め削むよび試験溶液の それを過す急速な移送を可能とする。

好ましい組成物は、また、乾燥のとき気軽した こぞうたいを形成する、水性エマルジョン抜弃 別、例えば、ポリ酢酸ビニルラテックスを含有 し、これによって改良された一体性を組成物に与 える。

第1図は、本発明の磁知装型10の全体の構成を示す。この装置は、強弱な、非導電性プラスチック材料、例えば、アクリロニトリループタヴエンースチレンーコポリマー (ABS) から作られた、関性のカードの形態キャリヤー11、およびその一幅をカバーする板12を含む。板12は、一般に、透明なプラスチック材料から作られる

に取り付けられており、そして内部の整24を有し、この速はシリンダーを、目盛り定め別額体を含有する目盛り定め別窓26と血磁または他の体液の試料を受取る試料窓27とに分割する。目過り定め別溶液は窓26内に工場で密閉され、そしてセンサーによって測定すべき、便知線度のグルコースを含有する。キャップ28は、ウェブ29によってシリンダー23へ接続されており、そして試料窓27が体液試料を受取った後、シリンダー23の上値より上に配置される。

測定アノード21は、第2図に断面図で示されており、グラファイトプラグ31、好ましくはグラファイトプラグから切ったシリンダーからなり、このプラグはカソード11のプラスチック材料中に孔を通して延びている。殴またはコーティング32は、プラグ31の1つの表面をカパーし、そしてそこから短い距離でプラグを取倒むモート33に至る。キャリヤー11の両方の面における導電性トラック34は、測定アノードにおいて発生した電子を送知を図内の彼点へ導き、そし

が、透明性は必須ではない。

キャリヤーの一層に、板より下に、毛質通路1 3が存在し、これはS字形であり、そしてギャリ ヤー11の上表面と実質的に平相なS字形カバー の下級面との間の狭い空間によって定められる。 毛管通路13は入口編14と出口編16との間を 走行する。入口竭に、「ブラウ (plow) と呼 ぶ、S字形の毛管通路のカパーの上昇した部分1 7が存在する。そのプラウの機能は、後途するよ うに、日盛り足め削および鉄験旅線を保持するは くに孔を開け、そしてこれらの寂液を、直続週 に、毛管道路の入口14に入らせることである。 パックグラウンドアノード18、カソード19お よび制定アノード21は、毛竹造路内に、その入 口に臍接して、存在し、そして各々は、御足アノ ード21について第2回に示すように、「モート (maat)」33によって収囲まれている。

円貸財ガイドスリーブ22は、入口17より上に板18の1つの角に取り付けられている。 多窓 シリンダー23はスリーブ22内に回転するよう

て完極的に所望の読みを提供するマイクロプロセッサへ高く。

バックグラウンドアノード18は、コーティングまたは飯をもたない以外、湖定アノード21に類似する。カソード19はキャリヤー11を通して延びる銀のプラグであり、その上表面は塩化銀の珍い層でコーティングされている。

コーティング32は、前述のように、少なくと もグルコースデヒドロゲナーゼ(グルコースが測 足すべき化学種でるとき)、メチレンブルー [3,7~ビス(ジメチルアミノ)フェノチアジ ン-5~イウムクロライド] およびパーフルオロ スルホン酸ポリマーからなる。

使用できる過当なパーフルオロスルホン酸ポリマーは、少なくとも約900の等価低量(equvalent weight)を有するものである。少なくとも約1100の等価低量は呼車し

パーフルオロスルホン酸溶液は、イー・アイ・ デュポン社から商標ナフィオン(Nafion ●)で商家的に収売されており、そして、また、マーチン (Martin) らの手順 [Anal. Chem., Vol. 54,1639 (1982)] によって調製することができる。

好ましくは、コーティング組成物は、また、水 宿性樹脂のポリマー、例えば、ポリビニルビロリ ドンを含有する。この材料の存在は、コーティン グまたは膜を、試験溶液の透過性をよりよくし、 そして読みをより返くする。

ポリピニルピロリドン(PVP)が水溶性ポリマーであるとき、それは、一般に、約 を越える、好ましくは約 を越える平均分子量を カオス

使用できる他の適当なポリマーは、ポリエチレンオキシド、ポリビニルアルコール、ヒドロキシエチルセルロース、アラビアゴムなどを包含する。

さらに、好ましいコーティング組成物は、また、水性エマルジョン接着剤、例えば、ポリ酢酸 ビニルラテックス接着剤を含有する。この物質

のための鎖い境界を形成し、その広がりを結婚に 電極の区域に限定する。

グラファイトは純性または萩木性の表面を有するが、驚くべきことには、木性コーティング組成物はそれによってはじかれないこと、およびコーティングは、乾燥後、それに接着性であることがわかった。

コーティングを乾燥すると、それは、臭悪的に は、コーティングの1gにつき、的 ~約 単位のグルコースデヒドロゲナーゼ、約 ~約

重量%のNAD+、約 ~約 重量%の メチレンブルーおよび約 的 重量%のパー フルオロスルホン酸ポリマーを含有する。さら に、コーティングは、0~約 重量%、好まし くは約 ~約 重量%の水溶性ポリマー、お よび0~約 重量%、好ましくは約 ~約 重量%の硬化したエマルジョン接着剤を含有する。

コーティングは、乾燥後、一般に、約 ~約 mm、好ましくは約 ~約 mmの厚さ は、決定的母のとき欠値して硬化し、これによって追加の一体性を決定酵母したコーティングに付 与し、コーティングが試験溶液で配調したときの 崩壊を少なくすると思われる。

使用できる他の水性エマルジョン接着剤は、ア クリレートおよびメタクリレートエステルのラ テックスポリマーを包含する。

約1000の使い捨てキャリヤーのための測定アノードの調製に十分な、典型的なコーティング 組成物は、約2000~約3000単位のグルコースデヒドロゲナーゼ、約0.2~約0.5をのニコチンアミドアデニンジヌクレイド、約0.0 1~約0.03をのメチレンブルーおよび約1~ 約2m1のパーフルオロスルホン酸ポリマーを 1.25重量%のポリマーを含有するメタノール 中の溶液として含有する。

コーティング組成的を測定電極の上表面に適用 し、次いで乾燥させる。測定電極を収囲むモート は、電極のヘリにおいて鋭い表面を形成し、これ によって、表面張力により、コーティング組成物

を有する。

特定の実施店様において、約1000の電極の ためのコーティング組成物は、次の成分からなる

- 1) グルコーステヒドロゲナーゼ、2610単位。
- 2) ニコチンアミドアデニンジヌクレイド、ナ トリウム塩、0.348g、
 - 3) メチレンブルー、0.0204g、
- 4) ポリピニルピロリドン (水中1%). 1. 517g、
- 5) ポリ酢酸ビニルラテックス (水中2.1 %)、0.453g、
- 6) パーフルオロスルホン酸ポリマー (水中 1.25%)、1.532ml。

グルコースデヒドロゲナーゼ、NAD* および メチレンブルーを、まず、水性ポリピニルピロリ ドン溶液中に程序しながら溶解する。次いで、ポ リ母間ピニルラテックスを、完全に配合するまで 遅搾しながら、添加する。組成物が提供されてい

この段階におけるコーティング組成物の外観 は、一般に、非常に暗い背であり、分散した微細 な思い粒子を含む。

操作における制定電極の性質を、第3図および 第4図に示す。第3図は2種類の試験に関する。 それは、第1試験において、電極におけるアンペ アを示し、電極が、まず、5ミリモルのグルコースを含有する目掛り定め何溶液に暴露され、次い で(120秒後)2ミリモルのグルコースを含有 するようにつくられた試験溶液に基づされると き、アンペアは変勢する。第2試験は、同様であ るが、試験溶液は20ミリモルのグルコースを含 有するようにつくられる。

第3図の左の血線を左から右に設むと明らかなように、電板は、最初、不見関な法知の電気的「ノイズ」の理由によって、少量の電数(約1)

前述の特定のコーティング組織物を使用して作られた。第3回の試験において使用した特定のシステムについて、試験溶液のアンペアの競みについての最適な時間は、目盛り定め間溶液の解放後約180秒および試験溶液の解放後約60秒である。他のコーティング組成物を使用すると、最適な試取り時間は目盛り定め間溶液の解放後2分的どに短い時間から費時間までに変化するであろう。

第4関は3種類の別々の曲線を含み、そして次の3種類の目盛り定め前について、電位を変化させたときの測定地流の変勢を示す:ルコースを含有しない目吸り定め例、および5ミリモルのグルコースを含有する目盛り定め例(それぞれ、曲線インド上のコーティングがメチレンブルーを含わてい)、および曲線とおけるのと同量のグルコースを含有すするが、コーティングが前途の実施機において記載した量のメチレンブルーを含有する目盛り定め例。

リアンペア)を発生し、そして電旋は、約60秒 以内に、日盛り定め開設液が電極に到達するにつ れて、3ミリアンペアに近くまで上昇する。

試験溶液が解放されると、約120秒後、磊合 作用によるアンペアの瞬間的なわずかの上昇が存 在し、次いで、試験溶液が目透り定め削溶液を希 取し、そのグルコース含量を低下させるにつれ て、アンペアは一定して低下する。

これと対照的に、右の曲線は、また、目盛り定め間溶液が電極に到達するときの、最初の60秒間のアンペアの増加を示す。これに引続いて、第2以験溶液が解放されるとき、120秒後、アンペアは大きく増加し、試験溶液が目低り定め削液のがルコースは上昇しはじめる。約180秒の後、約10ミリアンペアのピークアンペアが認取られ、この時、この装置のよってアンペアが認取られ、そして目優り定め間溶液についてのアンペアの設みと関係づけられて、試験溶液の所望の違みが得られる。

理解できるように、面線AおよびCの間において、曲線AおよびBの間におけるより、大きい恋が存在し、そして面線Aにおける電流のレベル(グルコースに起因しない電流を示す)はより高い電圧において許容されないほどに高い。こうして、コーティング組成物中のメチレンブルーの存在は、その不存在において得ることができるよりも、より大きい感度および精度を試験に与える。最適な結果は約0.2~約0.4ボルトの電位を付与したとき得られる。

第5回は、極端な精度が読みの速さを犠牲にして望まれるとき、有用である本是明の他の実施態様を示す。第5回において、第2回に類似する要素は回様な参照数字を有し、そして理解できるように、この実施思様における反応成分合有コーティング32グラファイトアノードおよび適用した以映溶液と直接接触しない。むしろ、反応成分合有コーティングはパーフルオロスルホン酸ポリマーの2月41および42の間に快まれる。水性媒質中の崩壊に対するパーフルオロスルホン酸ポ

リマー層の低抗は、試験液体のアノードへの殺通 を遅くし、そしてコーティングのアセンブリーに 一体性を付与するので、コーティングのアセンブ リーは要求するより長い接触期間のために放着性 を保持する。

第5回の実施虚様は、例えば、横端な精度を保証しかつ読みの温度が二次的な重要性をもつ決定、例えば、血液中のエチルアルコールのレベルの決定にとくに右肩である。

以下の表は、電波を発生するためにグルコース オキシダーゼ反応を利用する。商業的に入手可能 なグルコースのアンペア測定システムと比較し た、木発明のシステムの性能の特性を提供する。

	逐	
	先行技術の	木発明の
•	_システム_	システム
15 ISC		
血漿	3 - 8 %	3 - 5 %
全血液	6-10%	3 - 5 %
全血液を使用する		•

し、これによってブラウ17による孔関けによって宝26の底において館のシールを譲り、そして宝26から目盛り定め間の液体を毛管通路13の中に流入させ、ここで目盛り定め間の液体は3つのすべての電板18、19および21と接触する。目盛り定め間の液体の溢れが、液体へっドの減少および変面蛋力のために、停止したとき、目盛り定め剤の対象の読みを分析染遺によって目癌り定め剤のグルコースレベルに応答して行う。いったんこの読みがなされると(一般に約 秒後)、キャップ28およびシリンダー23をもう一度この時は180°だけ飲料の放験位置へ回し、ここで宝27の底における鏡のシールをプラウ17によって孔間けし、そして試験液体は毛質遊路13の入口14の中に流入する。

試験技体は、この時点において、電極18.1 9および21を含有する毛管造路3の部分において目路り定め角技体を置換する。毛管道路中の試験技体の技れは、また、液体ヘッドの減少および毛管作用のために、停止し、そして最後の測定は

最低の検出レベル るミリモル 1ミリモル以 及高の検出レベル 20ミリモル 30-35ミ リモル 触染の妨害 大きい、商業 なし の抑制信号 全血液を使用する 対けの実施 大きい 酸素のシステ ムのわずかに 精確さ 血液 士 1 ミリモル 1ミリモル山 全血液 ±1.5 € 9 1ミリモル以 モル

操作において、まず、体の試料を宝27に挿入し、次いで宝をキャップ28で密閉し、そして感知を受における適当なスロット中にこのカードアセンブリーを挿入する。次いで、キャップ28およびシリンダー23を開始位置から90°だけ回

分析炎型によってなされる。センサーの疑みに基 づいて、目近り足的例の液体が測定電極2.1 と増 地したときおよび試験液体が測定アノード2.1 と 接触したとき、分析炎型は試料液体中のグルコー スの濃度を誘導する。

本発明は、主として、グルコースレベルの決定 に関して説明した。しかしながら、本発明は、過 当なデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に脱水素され うる他の化学種、例えば、エタノール、乳酸塩な どを検出するために使用できる。

本発明を好ましい実施路様を参照して説明したが、本発明の投示および範囲を逸騰しないで、権 々の変化および変更が可能である。

木兔切の主な原縁および特徴は、次の通りである。

1. キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、脱水器に対して盛受性の選択した化学的 種のレベルをその溶液中においてそのためのデヒ ドロゲナーゼ酸器の存在下に、アンペア測定的 に、検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用

特開平2~1535 (8)

するための1回使用の基知装置において、前記電極の1つは、メチレンブルー、NAD*、パーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱木湯のための酵素からなる紅成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知装置。

- 2、前記部業はグルコースデヒドロゲナーゼである上記節1項記載の感知整置。
- 3、前記コーティング組成物は水溶性樹脂のポ リマーを含有する上記第1項記載の感知装置。
- 4、前記水溶性樹脂のポリマーはポリピニルピロリドンからなる上配第3項記載の癌知装置。
- 5、前記コーティング組成物は水性エマルジョン接着剤を含有する上記第1項記載の感知装置。
- 5、向記接着別はポリ酢酸ピニルラテックスからなる上記第1項記載の経知装置。
- 7、前記コーティングは約 ~約 mmの 厚さを有する上記第1項記載の延知装置。
- 8、前記コーティングは、約 ~約 単位 /gのグルコースデヒドロゲナーゼを含有し、モ
- 11、前記外表面は、前記選択した化学的種の 前記部被でぬらす前に、日盛り定め開部被でぬら す上記第10項記載の方法。
- 12. 前記選択した化学的機はグルコースであり、そして前記デヒドロゲナーゼ酵素はグルコースデヒドロゲナーゼである上記第10項記載の方法。
- 13、前記選択した化学的種はアルコールであり、そして前記デヒドロゲナーゼ酢湯はアルコールデヒドロゲナーゼである上記第10項記載の方

- 14、前記コーティングは、さらに、水溶性樹脂のポリマーおよび硬化したエマルジョン接着剤 を含わする上記第14項記載の方法。
- 15、南記水溶性樹脂のポリマーはポリビニル ピロリドンであり、そして前記級化したエマル ジョン接着例は硬化したポリ酢酸ビニルである上 記第14項記載の方法。
- 18. 前記コーティングは、約 ~約 他 位/Bのグルコースデヒドロゲナーゼ、約 ~

して約 ~的 重量%のNAD+、約 ~ 的 重量%のパーフルオロスルホン酸ポリマー および約 ~約 重量%のメチレンブルーを 合有する上記第2項記載の感知装置。

- 9、 南記コーティングは、さらに、約 ~約 重量光のポリピニルピロリドンおよび約 ~的 重量光の硬化したポリ酢酸ピニルを含有 する上記第8項記載の感知装置。
- 10、股水素に対して歴受性の選択した化学的 構の資度を、水溶性中において、そのためのデヒ ドロゲナーゼ酵素の存在下に決定する方法であっ て、電極上のコーティングの外表面を前記密路で ぬらし、前記溶液を消記コーティングを通過され で、電極と披触させ、そして前記電板と協議の電 を生成させ、その後、前記コーティ ンペアを認定することからなり、前記コーティ ングはメチレンブルー、NAD*、ペーフルオロ スルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的程 の脱水素のための酵素からなることを特徴とする 前記方法。
- 的 重量%のNAD+、約 ~約 重量%
 のパーフルオロスルホン酸ポリマーおよび約
 ~約 重量%のメチレンブルーを含有する上記
 第15項記載の方法。
- 17、前記アンペアは付加された電位において 湖定する上記第10項記載の方法。
- 18、前型付加された単位は約0.2~約0. 4ポルトである上記第17項記載の方法。
- 19、NAD+、パーフルオロスルホン酸ポリ マー、メチレンブルーおよびデヒドロゲナーゼ酵 柔からなる電板コーティング紅成物。
- 20. 前記酵素はグルコーステヒドロゲナーゼ である上記第19項記載の組成物。
- 21、前記コーティング組成物は、さらに、ポリビニルピロリドンおよびポリ酢酸ビニルラテァクスを含有する上記第20項記載の組成物。
- 22. 滇記コーティングは、約 ~約 単位/m1のグルコースデヒドロゲナーゼ、約 一約 重量%のNAD+、約 ~約 重量%のパーフルオロスルホン酸ポリマー、約 ~

的 重量%のメチレンブルーおよび的 ~約 重量%のポリ酢酸ビニルラテックスを含有する上記第20項記載の組成物。

23、NAD+、パーフルオロスルホン酸ポリマー、ポリビニルピロリドン、硬化したポリ酢酸ビニルラテックスおよびデヒドロゲナーゼ酵素からなるコーティングをその上に有する導電性本体からなる感知装置のための電板。

24、前記導電性本体はグラファイトである上 記算23項記載の電極。

25、前記コーティングは、約 ~約 抵 量%のNAD*、約 ~約 重量%のパーフ ルオロスルホン酸ポリマー、約 ~約 重量 %の硬化したポリ酢酸ビニルラテックス、および コーティングの18につき約 ~約 単位の グルコースデヒドロゲナーゼからなる上記第2-3 項記載の電極。

28. 煎記コーティングは単一の層のコーティングである上記第23項記載の電板。

27、前記コーティングは多暦コーティングか

らなり、ここで上記第23項記載の成分を含有する層がパーフルオロスルホン酸ポリマーから本質的に成る2層の間に挟まれている上記第23項記載の電極。

4、図面の簡単な説明

第1回は、木類明のシステムにおいてキャリ ヤーの分解料視関である。

第2図は、本発明の測定電極の拡大断面図である。

第3 図は、2 つの測定における時間に対する電 流の変数を示すグラフであり、ここで測定量のグ ルコースを含有する試験溶液は5 ミリモルのグル コースを含有する試験溶液は5 ミリモルのグル コースを含有する目盛り定め何である。第1 測定 において、試験溶液は2 ミリモルのグルコースを 含有する。

第4日は、(1) グルコースを含有しない目盛り定め付款液、(2) 5ミリモルのグルコースを含有する河様な溶液、および(3) 阿一量のグルコースおよび、さらに、 mg/mlのメチレンブルーを含有する阿様な溶液についての、加えた

電圧に対する電流の変数を示すグラフである。

第5 図は、木苑町の湖足道極の他の実施思様の 上部の拡大部分類面図である。

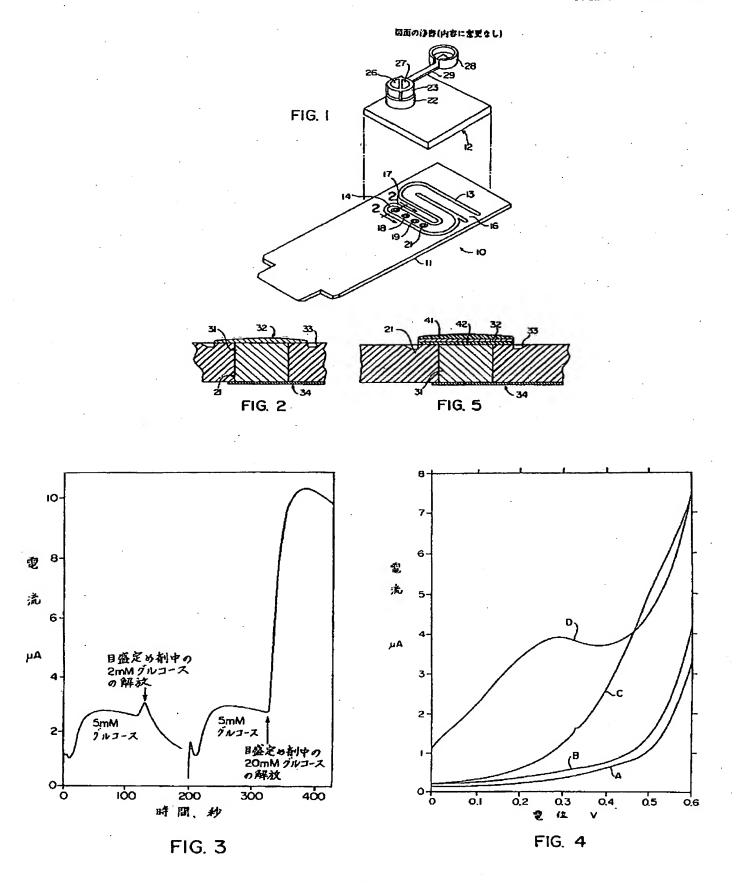
- 10 烙知装置
- 11 キャリヤー
- 12 板
- 13 毛竹道路
- 14 入口爐
- 16 出口編
- 17 上昇した部分
- 18 バックグラウンドアノード
- 19 カソード
- 21 御定アノード
- 22 円筒形ガイドスリープ
- 23 多室シリンダー
- 2.4 内部の療
- 26 目盛り定め預窓
- 27 共料宝
- 28 キャップ
- 29 ウェブ

- 31 グラファイトプラグ
- 3.2 設またはコーティング
- 33 モート
- 34 遊館性トラック
- 41 居
- 42 13

特許出願人 アーデン・メディカル・システムズ ・インコーポレーテッド ___

代 度 人 弁理士 小田島 平 吉

下侧加



第1頁の続き

®Int. Cl. 5

識別記号

庁内整理番号

G 01 N 27/416

70発 明 ウイリアム・ブイ・フ アウラー

アメリカ合衆国ミネソタ州55417ミネアポリス・ノコミス アベニユーサウス 4925

手統補正

昭和63年10月6日

特許庁長官 古 田 文 毅 .



昭和63年10月5日提出の特許関

2. 発明の名称

水溶液中の酵素脱水素可能な化学的種の測定のた

3. 補正をする者

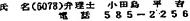
事件との関係

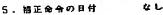
特許出頭人

アーデン・メデイカル・システムズ・イ ンコーポレーテンド

₹107 4. 代 理 人

> 直京都港区赤坂1丁目9番15号 転 平 会 館 小田島 平 省 日本自転 名(6078)弁理士 小B







明細周の特許請求の範囲の欄、発明の辞細な説明 のщ及び図面の関単な説明の個並びに図面

7. 補正の内容

将許庁

1、発明の名称

水溶液中の酵素脱水素可能な化学的種の 測定のためのセンサー

2、特許請求の範囲

1、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極か らなり、脱水器に対して感受性の選択した化学的 顔のレベルをその脅波中においてそのためのデヒ ドロゲナーゼ辞楽の存在下に、アンペア間定的に、 検出できる臨床化学的分析鼓励と一緒に使用する ための1回使用の感知装置において、前記電極の lつは、メチレンブルー、NAD*およびNAD P'から成る群のコフアクター、パーフルオロス ルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の 脱水素のための酵素からなる狙皮物でコーティン グされていることを特徴とする前記感知装置。

2、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極か らなり、水滸化に対して怒受性の週択した化学的 低のレベルをその溶液中においてそのためのデヒ ドロゲナーゼ酵虫の存在下に、アンペア測足的に、 換出できる臨床化学的分析を置と一緒に使用するための1回使用の感知装置において、前記電視の1つは、メチレンブルー、NADHおよびNADHから成る群のコファクター、パーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなる組成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知装置。

3、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、その溶液中においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア測定的に、検出できる臨床化学的分析技量と一緒に使用するための1四使用の感知技量において、前記電極の1つは、メチレンブルー、NAD*およびNADP*から成る群のコフアクター、パーフルオロスルルントがはリマーおよび的記憶技術でコーティングされていることを特徴とする前記感知技量。

4、脱水素に対して感受性の選択した化学的観 の濃度を、水溶液中において、そのためのデヒド ロゲナーゼ研索の存在下に決定する方法であって、

のための酵素からなることを特徴とする前記方法。

8、脱水素に対して感受性の選択した化学的機の設定を、水溶液中において、そのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に決定する方法であった。 電極上のコーティングの外表面を耐記溶液であら し、前記溶液を前記コーティングを通過させて前記 記電を接触させ、そして前記を返れのです。 の間の電流を生成させ、その後、前記はなのアングは、からなり、前記はないのででは、 はメチレンブルー、NAD・およびNADP・より 成と群のコファクター、パーフルオロの記水震の よりマーおよび的記述と ための酵素からなることを特徴とする ための酵素からなることを特徴とする。

7、NAD*、パーフルオロスルホン酸ポリマー、メチレンブルーおよびデヒドロゲナーゼ酵素からなる電極コーティング組成物。

8、NAD*、パーフルオロスルホン酸ポリマー、ポリピニルピロリドン、硬化したポリ酢酸ビニルラテックスおよびデヒドログナーゼ酵素からなるコーティングをその上に有する源電性本体か

電極上のコーティングの外表面を前記溶液で山ら し、前記溶液を前記コーティングを通過させて前 記電視と接触させ、そして前記電極と他の電極と の間の電流を生成させ、その後、前記電液のアン ペアを加定することからなり、前記コーティング はメチレンブルー、NAD*およびNADP*から 成る群のコフアクター、パーフルオロスルホン酸 ポリマーおよび前記選択した化学的種の酸水素の ための酵素からなることを特徴とする前記方法。

5、水素化に対して感受性の選択した化学的機の決定を、水溶液中において、そのためのデヒドロゲナーで耐素の存在下に決定する方法であって、電極上のコーティングの外表面を辞認でぬらし、部記ででは、その機、前記で低と他の電極との間の電流を生成させ、その後、前記コーティングはメチレンブルー、NADHおよびNADPHから成る群のコファクター、パーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的機の膨水素

らなる感知装量のための電框。

3、発明の詳細な説明

本発明は、医学的装置に関する。とくに、本発明は、水溶液、とくに体液、例えば、全血液、血 兼および尿の中の酵素脱水素可能なまたは水素化 可能な物質、例えば、グルコースまたはピルピン 酸のレベルを、アンペア的に、固定するために使 用する、臨床化学的分析装置に関する。

患者の血液または他の体液中のある他の化学的 物質および/または生物学的物質のレベルを構成 に、値観性をもって、かつ迅速な情報を得ること が、現代の診断医学において、要求されている。

一回使用の感知装置を利用するこのような分析のために有用なシステムは、 1 9 8 7 平 3 月 3 1 日付けの米国特許第 4 . 6 5 4 . 1 2 7 号 (リチャード W. ベイカーおよびロウジャー し.フンク) (その関示を引用によってここに加え

る) に記載されている。

本国特許第4.654.127号の技配において、体液、例えば、血液または尿のは料を多室の受器の1つの室に入れ、一方目盛り定め剤の液体を受器の他の室に入れる。次いで、センサーの電極へ、まず、目盛り定め剤の液体を流れさせ、次いで試験試料を混れさせる。液体とセンサー電衝との関次の授強は電流を発生させ、この電流を想定しかつ関係づけて、試験液体中の特定の物質の 強度に関する所望の情報を得る。次いで、キャリャー(carrier)を廃棄する。

米国特許第4.654.127号のシステムにおけるセンサー電磁の各々は、ポリマーおよび電気的活性種を含むコーティングを有するものとして関示されており、ここでポリマーはセンサーの活性区域にわたって度をつくり、そしてシステムの運電性表面に近くに電気的活性機を固定化する機能を有する。

また、溶液中のそのレベルを測定すべきある物 質、例えば、グルコースは、適当なデヒドロゲナ

ここでSH.およびSは、その設定を決定すべき 他の、それぞれ、水素化および脱水素された形態 を表わし、そしてMoxおよびMredは、それぞれ、 仲介物質の酸化されたおよび及元された形態を表 わす。

グルコースのレベルの電気化学的検出のための 最も普通のアッセイの系は、グルコースオキシダ ーゼの存在下に分子状酸素によりグルコースを酸 化して、グルコール酸および過酸化水素を生成す ることを含む。電気化学的検出は、酸素の資耗に、 あるいは過酸化物の発生に関係づけることができ

いずれの場合においても、この機構の主要な欠 点は酸素の利用可能性における関限である。この 制限は、試験液体において直面することが期待さ れる過度の所望の直線の範囲のために、通切な酸 素の供給を保証するために、予備者釈を必要とす - ゼ麻素の存在下に脱水素に対して感受性である こと、およびこのような脱水素は電子を遊離し、 これによって耐定可能な環境を発生することは知 られている。ほとんどの場合において、脱水実は 直接電流に変換されないが、むしろ、コファクタ ー、例えば、NADH(NAD*の還元された形 雌-ニコチンアミドアデニンジヌクレイド)、 お よび仲介物質を含む反応の機構による。このよう なシステムの一般的化学は、次の論文において論・ じられている:ロ・コルトン(Lo Gorton)、 「ニコチシアミド諸群素の電気放焦的酸化のため の化学的変性した電極(Chemical Modified of Nicotinamide Coenzymes) 1 . 1 . Chem. Soc. Faraday Tran s. 1 . 1986. 8 2, 1245-1258 (その開示を引用によっ てここに加える)。ロ・ゴルトン(Lo Gorton) の論文における反応機構は、次によって変わされ & :

る。さらに、全血液の測定は、ヘモグロビンの酸 素級衝能力のために、精味に測定することが非常 に困難である。

あるいは、先行技術は、化学反応において酸素の代わりに仲介物質を使用し、これはセンサー電低上の設またはコーティング中に挿入されて、予備者駅の必要性を誘致した。ペンゾキノンを仲介物質として選択する場合、グルコースとペンゾキノンとのグルコースオキシダーゼの存在下の反応はグルコール酸およびハイドロキノンを生成する。

この別法は、所望の (および間定する) 反応が グルコースと分子状酸素との前述の反応と競争す るという欠点を有する。こうして、異なる酸素 度をもつ試料は、同一のグルコース濃度において 異なる培養の応答を生成することがある。この妨 守は全血液の測定において最も原表である。

本発明の1つの面によれば、キャリヤーおよび 少なくとも2つの電流からなり、脱水楽に対して 透受性の選択した化学的機のレベルをその溶液中 においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在 下に、アンペア制定的に、検出できる監球化学的 分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知 技匠において、前記電板の1つは、メチレンブル ー、NAD'、パーフルオロスルホン散ポリマー および前記選択した化学的種の脱水素のための酵 葉からなる組成物でコーティングされていること を特徴とする前記感知装置が提供される。

肝ましくは、コーティング組成物は、また、水

ーゼ酵素を含有せず、むしろ試験すべき体液のデ ヒドロゲナーゼ酵素の含量によって消費されるこ とが期待される量を越える量において、測定すべ き酵素による水素化または脱水素に対して感受性 の種を含有する。

本免明のシステムにおいて、グルコース含量を、例えば、アンペアに翻訳するために必要な成分の すべては、グルコース含量の期待する直線の範囲 のために通切な供給で、コーティング中に配合さ れる。こうして、試料の予備希釈は不必要である。

さらに、酸素は測定において含まれず、そして 酸素の過度はそれに影響を及ぼさない。

コーティング中のメチレンブルーの存在は、低い印加電圧における検出および測定を可飽とし、.
こうしてより高い電位において酸化に感受性であ りうる機からの妨害を決除する。

本免明のコーティングされた電極は、急速に応答し、2分以下の特殊な測定を可能とする。

最後に、膜の組皮物は水溶液中に可溶性でなく、 そして信割性ある測定の実施を可能とするために 的性協館のポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン(PVP)および水性エマルジョン接着剤、例えば、ポリ酢酸ピニルラテックス接着剤を含有する。

ある股水素反応について、この分野において知られているように、コファクター(cofactor)として、NAD*の代わりにNADP*(ニコチンアミドアデニンジヌクレイドホスフェート)を使用することが好ましいことがある。

本発明は、また、脱水素よりわむしろ、水素化に感受性である化学的額に、デヒドロゲナーゼ酸素、例えば、ピルビン酸の存在下の適用することができる。このような用途において、コファクターの水素化された形態、すなわち、NADHまたはNADPHをNAD*またはNADP*の代わりにコーティング組成物において使用する。

本発明の他の実施関係において、本発明は体液 または他の水溶液中のデヒドロゲナーゼ酵素のレ ベルを検出するために使用できる。このような場 合において、コーティング組成物はデヒドロゲナ

十分に長い期間の間その一体性を保持する。アニ オン性パーフルオロスルホン酸ポリマーはカチオ ン性メチレンブルーを腹に結合すると低じられる。 本発明の感知電極は測定アノードであり、好ま しくは単一のカソードおよび地面に電子を伝達す

る並列の2つの別々のアノードの1つである。他 方のアノードは、「パックグラウンドアノード」 と呼び、カソードおよび地面に関して一定の電圧 を維持する。こうして、この分野において知られ ているように、試験音波に暴露されることによっ て起こる測定アノードにおける状態およびその上 の電子の発生の変化は、アノードおよびカソード の間に印加する電圧に無視できる影響のみを有す る。

調定アノードおよびパックグラウンドアノードの内者は、好ましくはグラファイトから作る。カソードは、好ましくは、扱から作り、そして塩化銀のコーティングを有する。前途のコーティング組成物でコーティングされるのは関定電極のみである。

パーフルオロスルホン酸ポリマーが唯一の問題 成分であるコーティング組成物において、コーティ ングは目盛り定め剤(calibrant)の液体および 試験液体のそれを通過する急速な移送のためには 密でありすぎる。こうして、このような組成物は より遅い試験において使用することができるが、 急速な読みを提供することを覚問するシステムに おいては好ましくない。

コーティング組成物が、また、水溶性関節のポリマーを含む好ましい実施随様において、コーティング組成物は目盛り定め剤および試験溶液のそれを通す思認な移送を可能とする。

好ましい担成物は、また、乾燥のとき架構した 構造体を形成する、水性エマルジョン接着剤、例 えば、ポリ酢酸ビニルラテックスを含有し、これ によって改良された一体性を組成物に与える。

第1図は、木発明の感知装置10の全体の構成 を示す。この装置は、強靭な、非導電性ブラスチック材料、例えば、アクリロニトリループタジエン ースチレンーコポリマー (ABS) から作られた、

円質形がイドスリーブ22は、入口17より上に 板18の1つの角に取り付けられている。多窓 シリンダー23はスリーブ22内に回転するよう に取り付けられており、そして内部の壁24を育し、ひり付けられており、そして内部の壁24を育し、この壁はシリンダーを、目壁的対策体を 弦の試料を受取る 試料金27とに分割され、そして シリーによって 測定すべき、 既知設武のグルコースを含有する。 キャップ28は、ウェブ29に よって シリンダー 23の上端より上に配置される。

図定アノード21は、第2因に断面図で示されており、グラファイトブラグ31、好ましくはグラファイトブラグのも切ったシリンダーからなり、このブラグはカソード11のブラスチック材料中に孔を通して延びている。臨またはコーティング32は、ブラグ31の1つの表面をカバーし、そしてそこから短い距離でブラグを取倒むモート3

関性のカードの形態キャリヤー11、およびその一端をカパーする板12を含む。板12は、一般に、透明なプラスチック材料から作られるが、透明性は必須ではない。

キャリヤーの一端に、仮より下に、毛管通路1 3が存在し、これは5字形であり、そしてキャリ ヤーししの上表面と実質的に平担なS字形カバー の下表面との間の狭い空間によって定められる。 毛管通路13は入口端14と出口偏16との間を 走行する。入口ぬに、「ブラウ (plow) と呼ぶ、 S字形の毛管通路のカバーの上昇した部分17が 存在する。そのブラウの機能は、後述するように、 目盛り定め削および試験溶液を保持するはくに孔 を聞け、そしてこれらの遊波を、遮袋的に、毛管 通路の入口14に入らせることである。 パックグ ラクンドアノード18、カソード19および測定 アノード21は、毛管通路内に、その入口に隣接 して、存在し、そして各々は、測定アノード21 について郊2図に示すように、「モート (moat)」. 33によって取囲まれている。

3 に至る。キャリヤー11の両方の値における導 電性トラック 3 4 は、関定アノードにおいて発生 した電子を感知袋置内の投点へ導き、そして完極 的に所望の読みを提供するマイクロブロセッサへ 導く。

バックグラウンドアノード18は、コーティングまたは膜をもたない以外、薄定アノード21に 類似する。カソード19はキャリヤー11を通し て延びる銀のブラグであり、その上表面は塩化銀の薄い層でコーティングされている。

コーティング32は、前途のように、少なくともグルコースデヒドログナーゼ (グルコースが関定すべき化学程でるとき)、メチレンブルー [3.-7 - ビス (ジメチルアミノ) フェノチアジン・5 - イウムクロライド] むよびパーフルオロスルホン酸ポリマーからなる。

使用できる適当なパーフルオロスルホン酸ポリマーは、少なくとも約900の等価重な(equval ent weight)を有するものである。少なくとも約1100の等価重量は好ましい。

パーフルオロスルホン酸溶液は、イー・アイ・デュポン社から簡便ナフィオン(Nafion®)で 商業的に販売されており、そして、また、マーチン(Martin)らの手刷 [Anal. Chem. . Vol. 54, 1639(1982)]によって潤拠する ことができる。

好ましくは、コーティング組成物は、また、水 耐性機関のポリマー、例えば、ポリビニルビロリ ドンを含有する。この材料の存在は、コーティン グまたは庭を、試験抱欲の透過性をよりよくし、 そして読みをより遠くする。

ポリビニルビロリドン (PVP) が水溶性ポリマーであるとき、それは、一般に、約10,000 を越える、好ましくは約300,000を越える平均分子量を有する。

使用できる他の適当なポリマーは、ポリエチレンオキシド、ポリピニルアルコール、ヒドロキシエチルセルロース、アラビアゴムおよびアルギン 散などを包含する。

さらに、好ましいコーティング組成物は、また、

し、次いで乾燥させる。測定電極を取囲むモートは、電極のへりにおいて超い表面を形成し、これによって、表面張力により、コーティング組成物のための観い気界を形成し、その広がりを精確に電板の区域に限定する。

グラファイトは袖性または確水性の表面を有するが、 無くべきことには、水性コーティング組成物はそれによってはじかれないこと、 およびコーティングは、 乾燥後、それに投着性であることがわかった。

コーティングを乾燥すると、それは、典型的には、コーティングの1gにつき、約4000~約8000単位のグルコースデヒドロゲナーゼ(またはその約8~約16 変益%)、約75~約87 変量%のNAD。約2~約6 重量%のメチレンブルーおよび約2~約4度量%のパーフルオロスルホン散ポリマーを含有する。さらに、コーティングは、0~約7度量%、肝ましくは約2~約4 重量%の水溶性ポリマー、および0~約5 重量%、肝ましくは約1~約3 重量%の硬化したエマルジョ

水性エマルジョン接着剤、例えば、ポリ酢酸ビニルラテックス接着剤を含有する。この物質は、決定酵母のとき架構して硬化し、これによって追加の一体性を決定酵母したコーティングに付与し、コーティングが試験溶液で温潤したときの別壊を少なくすると思われる。

使用できる他の水性エマルジョン接着剤は、ア クリレートおよびメタクリレートエステルのラテッ クスポリマーを包含する。

約1000の使い捨てキャリヤーのための測定
アノードの別竪に十分な、典型的なコーティング
組成物は、約2000~約3500単位のグルコースデヒドロゲナーゼ(または50単位/mg括
性に悪いて約0.04~約0.07g)、約0.2
~約0.5gのニコチンアミドアデニンジスクレイド、約0.01~約0.03gのメチレンブルーおよび約1~約2mlのパーアルオロスルホン酸ポリマーを1.25重量%のポリマーを含有する
メタノール中の溶液として含有する。

コーティング組成物を測定電極の上表面に適用

ン接着剤を含有する。

コーティングは、乾燥後、一般に、約2~約4 ミル、好ましくは約3~約3.5ミルの厚さを育する。

特定の実施機様において、約1000の電極のため のコーティング組成物は、次の成分からなる:

- 1) グルコースデヒドロゲナーゼ、2235単位、
- 2)ニコチンアミドアデニンジヌクレイド、ナトリウム塩、0.298g、
 - 3) メチレンブルー、0.175g、
- 4)ポリビニルピロリドン(太中1%)、1. 3 0 0 g.
- 5) ポリ酢酸ピニルラテァクス (水中2. l%)、0.388g、
- 6)パーアルオロスルホン酸ポリマー (水中1.25%)、1.313ml。

コーティング組成物は、肝ましくは、約500 ~約1000単位/miのグルコースデヒドログナーゼ、約9~約15度量%のNAD*、約0.3 ~ 約0.6 重量%のパーフルオロスルホン酸ポリマー、約0.4 ~ 約0.9 重量%のメチレンブルーおよび約0.1 ~ 約0.6 重量%のポリ酢酸ビニルラテックスを含有する。組成物の強部は溶媒、主として水である。

グルコースデヒドロゲナーゼ、NAD*および メチレンブルーを、まず、水性ボリビニルビロリ ドン酸液中に撹拌しながら溶解する。次いで、ポ リ酢酸ビニルラテックスを、完全に配合するまで 撹拌しながら、添加する。組成物が撹拌されてい る間、パーフルオロスルホン酸ポリマー溶液を滴 々低加する。1~2分にわたる、この成分のゆっ くりした添加は、ポリマーをコーティング組成物 内に微細に分散させるために必要である。

この段階におけるコーティング組成物の外観は、 一般に、非常に暗い育であり、分散した説明な異 い粒子を含む。

操作における測定電極の性質を、第3図および 第4図に示す。第3図は2種類の試験に関する。 それは、第1試験において、電極におけるアンペ

間のアンペアの増加を示す。これに引続いて、第 2 試験溶液が解放されるとき、120秒後、アンペアは大きく増加し、試験溶液が目盛り定め剤液 底中に配合され、それと優換されるとき、溶液のグルコースは上昇しはじめる。約180秒の後、約10ミリアンペアのピークアンペアが読取られ、この時、この装置のよってアンペアが読取られ、そして目盛り定め剤溶液についてのアンペアの読みが得られる。

前述の特定のコーティング組成物を使用して作られた、第3回の試験において使用した特定のシステムについて、試験溶液のアンペアの設みについての最適な時間は、目盛り足め刺激液の解放後約60秒である。他のコーティング組成物を使用すると、最適な認取り時間は目盛り定め刺激液の解放後2分段度に短い時間から20分またはそれ以上までに変化するであろう。

第4回は、4つの別々の曲線を含有し、そして

アを示し、電極が、まず、5ミリモルのグルコースを含有する目盛り定め利溶液に暴露され、次いで(120秒後)2ミリモルのグルコースを含有するようにつくられた試験溶液に暴露されるとき、アンペアは変動する。第2試験は、同様であるが、試験溶液は20ミリモルのグルコースを含有するようにつくられる。

第3図の左の曲線を左から右に設むと明らかなように、電視は、最初、不規則な未知の電気的「ノイズ」の理由によって、少量の電流(約1ミリアンペア)を発生し、そして電流は、約60秒以内に、目盛り定め利用液が電極に到達するにつれて、3ミリアンペアに近くまで上昇する。

試験音破が解放されると、約120秒後、混合作用によるアンベアの瞬間的なわずかの上昇が存在し、次いで、試験音磁が目盛り定め削留液を治 放し、そのグルコース含量を低下させるにつれて、アンベアは一定して低下する。

これと対照的に、右の曲線は、また、目盛り定め削縮液が電板に到達するときの、最初の60秒

グルコースを含有しない目盛り定め剤(曲線 A および B)について、および 5 ミリモルのグルコースを含有する目盛り定め剤(曲별 C むよび B)について、印加した電位を変化させて、測定した電流の変動を示す。曲線 A および C は、アノードのコーティングがメチレンブルーを含有しないシステムを変わす。曲線 B むよび D は、コーティングが以後の特定の実施例に記載する量でメチレンブルーお含有するシステムを表わす。

理解できるように、曲線AおよびCの間において、曲線BおよびDの間におけるより、大きで流が存在し、そして曲線AおよびBにおけるようで流のいるでは、そのでは、ない電圧において許容されないほどにあり、は、かできるように、コーティング組成物中のメチレンができるようも、より大きい感度および特度をは、より大きのできるようも、ないないできるようも、ないないできるようも、ないできるようも、ないできるようも、ないできるようも、ないできるようも、ないではないできる。最近ないできる。最近ないできる。最近ないできる。

特開平2-1535 (18)

第5回の実施型機は、例えば、極端な構度を保証しかつ競みの測度が二次的な重要性をもつ決定、例えば、血液中のエチルアルコールのレベルの決定にとくに有用である。

以下の表は、電流を発生するためにグルコース

かに1/4

精確さ

血浆 1ミリモル/4 1ミリモル以下/4 全血液 ±1.5ミリ 1ミリモル以 モル/4 下/4

オキシダーゼ反応を利用する、 高楽的に入手可能 なグルコースのアンペア 間定システムと比較した、 本発明のシステムの性値の特性を提供する。

丧

	_	
	先行技術の	本発明の
	システム	システム
特度		
血泵	3 - 8 %	3 - 5 %
全血液	6 - 1 0 %	3 - 5 %
全血液を使用する		
最低の役出レベル 3	3 ミリモル/4	1ミリモル
		以下/8
最高の検出レベル 2()ミリモル/ロ	30-35
		ミリモル
		/ a
放来の妨害	大きい、酸素	なし
	の抑制信号	

全血液を使用する

温度の影響 大きい 酸素のシステムのわず

んこの読みがなされると(一般に約120秒後)、 キャップ28およびシリンダー23をもう一度こ の時は180°だけ試料の試験位置へ回し、ここ で室27の底における箱のシールをプラウ17に よって孔開けし、そして試験流体は毛管通路13 の入口14の中に放入する。

試験液体は、この時点において、電板18。19および21を含有する毛管通路3の部分において目盛り定め削減体を置換する。毛管通路中の試験液体の流れは、また、液体ヘッドの減少および毛管作用のために、停止し、そして最後の測定は分析装置によってなされる。センサーの読みに基づいて、目盛り定め前の液体が測定電極21と増地したときおよび試験液体が測定アノード21と検触したとき、分析装置は試料液体中のグルコースの設定を誘導する。

本発明は、主として、グルコースレベルの快定 に関して説明した。しかしながら、本発明は、選 当なデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に脱水素され うるまたは水素化されうる他の化学級、例えば、 エタノール、乳酸塩、ビルベート、コレステロール、スレエート、グリセロールおよびグルタメート、ピルピン酸塩、コレステロール、りんご酸塩、グリセロールおよびグルタミン酸塩などを検出するために使用できる。

本発明を好ましい実施限様を参照して説明したが、本発明の数示および範囲を逸脱しないで、独々の変化および変更が可能である。

本発明の主な題様および特徴は、次の通りである。

1、キャリヤーおよび少なくとも2つの遺極からなり、脱水素に対して感受性の選択した化学的 他のレベルをその複変中においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア部定的に、 使出できる歴界化学的分析装置と一緒に使用する ための1回使用の感知装置において、前記電低の 1つは、メチレンブルー、NAD*およびNAD P'から成る譚のコフアクター、パーフルオロス ルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の 脱水素のための解案からなる組成物でコーティン

来のための酵菜からなる組成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知装置。

4、商記酵素はグルコースデとドログナーゼである上記第1項記載の感知装置。

5、前記コーティング組成物は水沼性樹脂のポリマーを含有する上記第1.2 および3項のいずれかに記載の感知装置。

6、前記水溶性樹脂のポリマーはポリビニルビロリドンからなる上記第5項記載の癌知扱母。

7、 信息コーティング組成物は水性エマルジョン接着剤を含有する上記第1、 2 および 3 項のいずれかに記載の終知装置。

8、前記接着剤はポリ酢酸ビニルラテックスからなる上記第?項記載の感知装置。

9、前記コーティングは約2~約4ミルの厚さ を有する上配第1,2および3項のいずれかに記 載の感知装配。

10、前記コーティングは、約4000〜約8 000単位/8のグルコースデヒドロゲナーゼを 合有し、そして約75〜約87重益%のNAD*. グされていることを特徴とする前記級知效量。

2、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、水深化に対して感受性の選択したのでを 低のレベルをその存在ではないである。 はのレベルをその存在ではないできる。 はいできる。 はいできる。 はいできる。 はいのし、メチレンブルー、トムの日は、スチレンブルー、トムの日のよび、トムの日ののではないのである。 しつは、メチレンブルー、ハイフルルのでは、カーカーのでは、カーファクターがよび、ロースルルー、のでは、カーカーのでは、カー

3、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、その溶液中においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア測定的に、検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知装置において、前記電極の1つは、メチレンブルー、NAD*およびNADP*から成る群のコファクター、パーフルオロスルホン酸ボリマーおよび前記選択した化学的機の脱水

約2~約4項量%のパーフルオロスルホン酸ポリマーおよび約3~約6重量%のメチレンブルーを含有する上記部4項記載の感知装置。

11、前記コーティングは、さらに、約2~約4 重量%のポリビニルピロリドンおよび約1~約3 重量%の硬化したポリ酢酸ビニルを含有する上記第10項配載の感知装置。

12、脱水素に対して基受性の選択した化学的 値の設度を、水溶液中において、そのためのデヒ ドロゲナーゼ酵素の存在下に決定する方法であっ で気性上のコーティングの外数面を前記部をで ぬらし、耐足溶液を削記コーティングを通過ので で内記電医と接触させ、そして耐記電との を立っているでである。 を立っているでは、 を立っているでは、 を立っているでは、 ではメチレンブルー、 NAD・およびNADP・ から成る群のコファクター、 パーフルオロスルホン酸ボリマーおよび の記載にと、 の記載になるでは、 のこっているない。 のこっているない。 のこっているない。 のこっているない。 のには、 のには、 のには、 のには、 のには、 のにない。 のには、 のにない。 のには、 のにない。 のにない。 のには、 のにない。 のにない。 のにない。 のには、 のにない。 13. 水森化に対して感受性の選択した化学的 種の機能を、水溶液中において、そのためのデヒ ドロゲナーゼ酵素の存在下に決定する方法でおっ で、電極上のコーティングの外表面を前記電路で ぬらし、前記溶液を前記コーティングを通過させ ではとの間の電液を生成させ、その後、前記電路の アンペアを測定することからなり、前記コーティ ングはメチレンブルー、NADHおよびNADP 日から成る群のコファクター、パーフルオロスル ホン酸ボリマーおよび前記器状した化学的観記 水業のための酵素からなることを特徴とする前記 水準のための酵素からなることを特徴とする前記

14、脱水素に対して感受性の選択した化学的 個の設定を、水溶液中において、そのためのデヒ ドロゲナーゼ酵素の存在下に決定する方法であっ て、電極上のコーティングの外表面を前記溶液で あらし、前記溶液を前記コーティングを通過させ て前記電極と接触させ、そして前記電極と他の電 極との間の電流を生成させ、その後、前記電流の

を含有する上記第12。 1 3 および 1 4 項のいず れかに記載の方法。

19、前記水溶性樹脂のポリマーはポリビニルピロリドンであり、そして前記硬化したエマルジョン抜着剤は硬化したポリ酢酸ピニルである上記第18項記載の方法。

20、前記コーティングは、約4000一約8000単位/Eのグルコースデヒドロゲナーゼ、 約75~約87直量%のNAD°、約3~約6重量%のパーフルオロスルホン酸ポリマーおよび約2~約4重量%のメチレンブルーを含有する上記第19項配載の方法。

21、前記アンペアは付加された電位において 別定する上記第12.13および14項のいずれ かに記載の方法。

22、前記付加された電位は約0.2~約0. 4ポルトである上記第21項記載の方法。

23、NAD*、パーフルオロスルホン酸ポリマー、メチレンブルーおよびデヒドロゲナーゼ酵素からなる電極コーティング組成物。

アンペアを測定することからなり、前記コーティングはメチレンブルー、NAD*およびNADP* より成る群のコフアグター、パーフルオロスルホン設ポリマーおよび前記選択した化学的種の製水 素のための酵素からなることを特徴とする前記方

15、前記外表面は、前記選択した化学的種の 前記辞版でねらす前に、目盛り定め前辞版でねら す上記第12。13 むよび14項のいずれかに記 並の方法。

16、前記選択した化学的種はグルコースであり、そして前記デヒドログナーゼ酵素はグルコースデヒドログナーゼである上記第12項記載の方 tt

17、前記選択した化学的社はアルコールであり、そして前記デヒドロゲナーゼ辞彙はアルコールデヒドロゲナーゼである上記第12項記載の方法。

18、前記コーティングは、さらに、水疳性樹 腹のポリマーおよび硬化したエマルジョン接着剤

2 4 、前記酵素はグルコースデヒドロゲナーゼ である上記節 2 3 項記載の組成物。

25、前配コーティング組成物は、さらに、ポ リビニルピロリドンおよびポリ酢酸ビニルラテッ クスを含有する上配節23項記載の組成物。

26、前記コーティングは、約500~約1000年位/mlのグルコースデヒドロゲナーゼ、約9~約15度登%のNAD*、約0.3~約0.6位登%のパーフルオロスルホン酸ポリマー、約0.4~約0.9位量%のメチレンブルーおよび約0.1~約0.6位量%のポリ酢酸ビニルラテァクスを含有する上記第24項記載の組成物。

27、NADで、パーアルオロスルホン酸ポリマー、ポリビニルピロリドン、硬化したポリ酢酸ビニルラテックスおよびデヒドロゲナーゼ酵素からなるコーティングをその上に有する薄電性本体からなる感知装置のための電極。

28、前記導電性本体はグラファイトである上記第27項記載の電極。

29、前配コーティングは、約75~約87歳

特開平2-1535 (21)

最外のNAD*、約2~約4 重量%のパーフルオロスルホン酸ポリマー、約1~約3 重量%の硬化したポリ酢酸ビニルラテックス、およびコーティングの1gにつき約4000~約800.0単位のグルコースデヒドロゲナーゼからなる上記第27項記載の資程。

30、前記コーティングは単一の間のコーティングである上記第27項記載の電極。

31、前記コーティングは多層コーティングからなり、ここで上記部27項配載の成分を含有する層がパーフルオロスルホン酸ポリマーから本質的に成る2層の間に挟まれている上記第27項記載の環境。

4、図面の簡単な説明

第1 図は、本籍明のシステムにおいてキャリ ヤーの分解斜視図である。

第2回は、本発明の別定電板の拡大断面図である。

第3図は、2つの測定における時間に対する電 波の変動を示すグラフであり、ここで測定量のグ

手統補正舊 (方式)

平成1年3月7日

特許庁長官 吉 田 文 穀 殿

1. 事件の表示

昭和63年特許歐第251736号

2. 発明の名称

水溶液中の酵菜脱水素可能な化学的種の測定のための

3. 補正をする者

事件との関係 特許出額人

4.代理人 〒107

住 所 東京都港区赤坂1丁目9番15号 日本自 駅 車 会館

氏名(6078)弁理士小田岛平者

電 話 585-2256



5. 補正命令の日付 平成1年1月31日(発送日)

7. 補 正 の 内 容 別紙のとおり 図面の浄書(内容に変更なし) 特許庁 ルコースを含有する試験溶液は5ミリモルのグルコースを含有する目盛り定め剤である。第1間定において、試験溶液は2ミリモルのグルコースを 会容する。

第4図は、グルコースを含有するか、あるいは 含有しない目盛り定め剤について、およびメチレ ンブルーを含有するか、あるいは含有しない目盛 り定め剤について、印加した電圧に対する電流の 変動を示すグラフである。

第5回は、本発明の測定電板の他の実施風機の 上部の拡大部分断面図である。

特許出願人 アーデン・メデイカル・システム ズ・インコーボレーテンド

代 理 人 弁理士 小田島 平 吉

